Aus dem Tropenmedizinischen Institut der Universität Tübingen
Direktor: Professor Dr. med. H. J. Knüttgen

Parasitaemie und Serumeiweißbild bei der experimentellen Trypanosoma cruzi-Infektion des Meerschweinchens

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

dem Fachbereich Theoretische Medizin
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
Wolfgang Herms
aus Sachsenhausen/Waldeck

1970

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547609_0101

Aus dem Tropenmedizinischen Institut der Universität Tübingen
Direktor: Professor Dr. med. H. J. Knüttgen

Parasitaemie und Serumeiweißbild bei der experimentellen Trypanosoma cruzi-Infektion des Meerschweinchens

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

dem Fachbereich Theoretische Medizin
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
Wolfgang Herms
aus Sachsenhausen/Waldeck

1970

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Dekan: Professor Dr. K. Mörike

1. Berichterstatter: Dozent Dr. W. Kretschmar
2. Berichterstatter: Professor Dr. H.J. Knüttgen

FOTODRUCK PRÄZIS Barbara v.Spangenberg KG · Tübingen

INHALTSVERZEICHNIS

A.	Einleitung	1
B.	Material und Methoden	2
I.	Erregerstamm	2
II.	Versuchstiere und Haltung	2
III.	Infektion	2
IV.	Blutuntersuchungen	2
V.	Statistische Auswertung	4
C.	Ergebnisse	5
I.	Leukozytenzahl	5
II.	Parasitaemie	5
III.	Serumeiweiß-Veränderungen	8
	a. Trennleistung der Disc-Elektrophorese und Interpretation der Banden	8
	b. Fraktionen	10
	c. Gesamt-Serumeiweiß	17
D.	Diskussion	18
I.	Parasitaemie	18
	a. Gewebsbefall	18
	b. Virulenz des Erregers	19
	c. Art des Wirtes	20
	d. Inokulationsdosis	20
	e. Inokulationstechnik	21
II.	Serumeiweiß-Veränderungen	21
	a. Albumine	22
	b. Immunglobuline	23
III.	Aktive Immunisierung	24
IV.	Passive Immunisierung	25
E.	Zusammenfassung	26
F.	Literaturverzeichnis	27

A. EINLEITUNG

Meerschweinchen lassen sich mit Trypanosoma cruzi,dem Erreger der Chagas-Krankheit, experimentell infizieren, wobei sowohl akute tödliche als auch chronische Verlaufsformen beobachtet werden (MAYER und DA ROCHA LIMA, 1914; REICHENOW, 1934). Pathologisch-anatomisch findet man beim Meerschweinchen das Bild einer Myocarditis mit Untergang von intracardialen Ganglienzellen (JAFFE und Mitarb., 1961; DOMINGUEZ und SUAREZ, 1962; KOZMA, 1962).

Über das Serumeiweiß-Bild von Versuchstieren nach Infektion mit T. cruzi ist nur wenig bekannt: SENECA und seine Mitarbeiter (1958) untersuchten mit Hilfe der Papierelektrophorese die Zusammensetzung des Serumeiweißes am 15. Tag der Infektion bei der Maus.

In der vorliegenden Untersuchung wurden die Serumproteinveränderungen bei mit T. cruzi infizierten Meerschweinchen in Beziehung zur Parasitenvermehrung mit Hilfe der Disc-Elektrophorese regelmäßig analysiert.

B. MATERIAL UND METHODEN

I. ERREGERSTAMM

Der verwendete Erregerstamm "G" wurde 1937 in Guatemala isoliert. 1960 kam er aus dem Bernhard-Nocht-Institut, Hamburg, an das Tropenmedizinische Institut der Universität Tübingen, wo er seither in Tiefkühlung gehalten und fortlaufend in Mäusepassagen kontrolliert wird.

II. VERSUCHSTIERE UND HALTUNG

Die Untersuchungen wurden an Meerschweinchen aus der Herde der Bundesforschungsanstalt für Viruskrankheiten, Tübingen, durchgeführt, die zur Zeit der Infektion zwischen 4-5 Wochen alt waren und 250-300 g wogen. Die Tiere waren einzeln in Makrolonkäfigen (Bodenfläche ca. 780 cm^2) bei 22-25°C und 50-60% rel. Luftfeuchtigkeit untergebracht und standen täglich 12 Stunden unter einer dem Tageslicht entsprechenden Beleuchtung. Als Futter wurde die Altromin^R-Alleindiät für Meerschweinchen der Firma Altrogge, Lage (Lippe) mit reinem Leitungswasser verabreicht.

III. INFEKTION

Die Meerschweinchen wurden intraperitoneal mit $7{,}2 \cdot 10^5$ Parasiten pro Tier infiziert; das Inokulum bestand aus Citrat-Blut, welches durch Entbluten von zehn Mäusen mit hoher Parasitendichte gewonnen und mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnt worden war.

IV. BLUTUNTERSUCHUNGEN

Für die laufenden Untersuchungen (Leukozytenzählung, Dicke Tropfen und Disc-Elektrophorese) ließ sich eine ausreichende Blutmenge durch Anritzen der Ohrvene der Versuchstiere gewinnen. Die Parasitendichte wurde aus der Zahl der Leukozyten und der Zahl der im Dicken Tropfen auf 500 Leukozyten entfallenden Trypanosomen errechnet. Für die Disc-Elektrophorese wurde Blut in nicht heparini-

sierten Glaskapillaren (sog. Schmelzpunktbestimmungsröhrchen) zentrifugiert.

Bei dem verwendeten Disc-Elektrophorese-Verfahren (Modell 12 der Canal Industrial Corp., Bethesda, Md., USA) werden jeweils nur 3ul der so gewonnenen Seren elektrophoretisch aufgetrennt. Die kleinen Mengen lassen sich mit "Microcaps" (Fa. Drummond Scientific Co., Broomall, Pa., USA) abmessen. Bei der Disc-Elektrophorese dient als Trägersubstanz ein Polyacrylamid- (PAA-) Gel, das durch Polymerisation aus monomerem Acrylamid entsteht. In fettfreien, einseitig mit Gummikappen verschlossenen Glasröhrchen (Länge 60 mm, lichte Weite 5 mm) werden drei Schichten dieses Gels übereinander polymerisiert. Zunächst werden 0,15 ml gepufferte monomere Acrylamid-Lösung mit einem Zusatz von Riboflavin als Photokatalysator mit den 3 µl Serum gemischt und vor einer Neon-Lampe zu dem grobporigen Probengel (pH = 8,9) photopolymerisiert. Die nächste Schicht, das gleichfalls grobporige Sammelgel (pH = 8,9), entsteht durch Photopolymerisation von weiteren 0,15 ml Acrylamid-Lösung mit Riboflavin-Zusatz. Die dritte Schicht, ein feinporiges Trenngel (pH = 9,5), polymerisiert nach Zugabe von Ammonium-Persulfat als Katalysator und füllt den verbleibenden Raum aus.

Zur Elektrophorese werden die Glasröhrchen nach Entfernen der Gummi-Kappen senkrecht im Boden einer oberen Elektrodenwanne befestigt, die dann mit Tris-Puffer (pH = 8,4) gefüllt wird. Die freien Enden der Röhrchen tauchen in eine ebenfalls mit Tris-Puffer (pH = 8,4) gefüllte untere Elektrodenwanne. Die obere Wanne, in die das Probengel hineinragt, wird mit der Kathode, die untere Wanne mit der Anode einer Gleichstromquelle verbunden. Bei einer Stromstärke von 0,5 mA pro Gel dauert der Trennvorgang etwa 40 Minuten. Der Ablauf der Elektrophorese läßt sich gut verfolgen, wenn dem Kathodenpuffer eine Spur von Bromphenolblau zugesetzt wird, das dann als sichtbare Bande der Analysensubstanz vorauseilt. Nach der Trennung werden die Gelsäulen aus den Glasröhrchen gelöst und mit Anilin-

Blau in 7%iger Essigsäure gefärbt und fixiert. Die proteinfreien Gelabschnitte werden elektrophoretisch entfärbt. Die Extinktionskurve der gefärbten Proteinbanden wird mit dem Chromoscan Doppelstrahl-Densitometer (Fa. Joyce, Loebl & Co. Ltd., Gateshead, England) aufgezeichnet, wobei sich der von den einzelnen Kurvenabschnitten begrenzte Flächeninhalt im selben Arbeitsgang ermitteln läßt.

Die zur Bestimmung des Serum-Gesamteiweißes nach der Biuret-Methode benötigten größeren Blutmengen mußten durch Herzpunktion gewonnen werden. Da bei den mit T. cruzi infizierten Meerschweinchen mit einer spezifischen Myocarditis zu rechnen war, wurden - um die 24 fortlaufend untersuchten Tiere nicht zusätzlich zu gefährden - 8 weitere Meerschweinchen infiziert und ihr Serum-Gesamteiweiß vor der Infektion sowie 10 und 24 Wochen p.i. bestimmt.

V. STATISTISCHE AUSWERTUNG

Die Ergebnisse wurden im Additionsverfahren ausgewertet. Zu jedem Mittelwert ($\bar{x}$) wurden die Standard-Abweichung (s_d) und der mittlere Fehler des Mittelwertes ($s_{\bar{x}}$) berechnet. Die Wahrscheinlichkeit (p), mit der sich unter der zu prüfenden Hypothese das Versuchsergebnis oder ein noch unwahrscheinlicheres zufällig ergeben würde, wurde nach dem Prüfverfahren von STUDENT (t-Test) ermittelt.

C. ERGEBNISSE

Vor der Infektion wurden die Ausgangswerte für die Leukozytenzahl und die Elektropherogramm-Abschnitte der 24 Versuchstiere ermittelt. Leukozyten und Parasiten wurden in den ersten 8 Wochen der Infektion alle 7, danach bis zur 12. Woche p.i. alle 14 Tage gezählt. Die Serumeiweiß-Veränderungen wurden bis zur 8. Woche p.i. ebenfalls wöchentlich, anschließend bis 16 Wochen p.i. 14-tägig analysiert. Eine weitere Disc-Elektrophorese wurde am Ende der Untersuchung - 24 Wochen p.i. - durchgeführt.

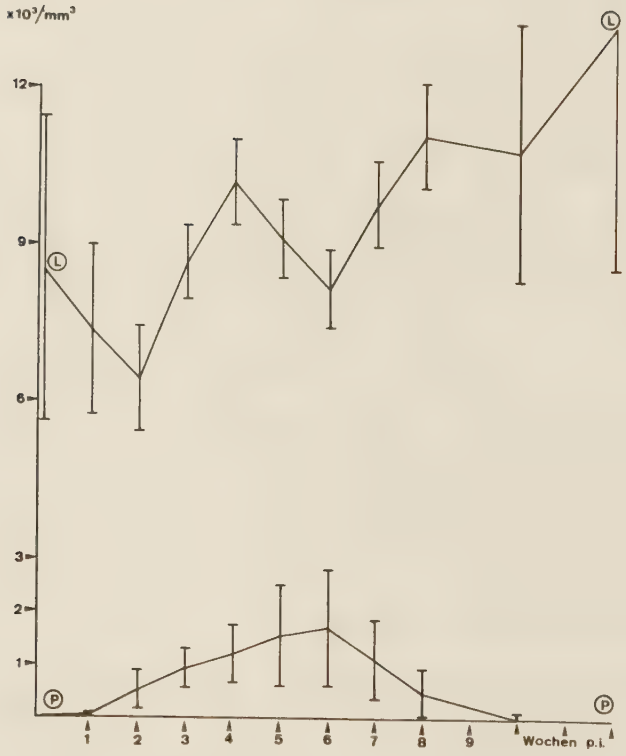
I. LEUKOZYTENZAHL (Abb. 1; Tab. 1)

In den ersten beiden Wochen der Infektion geht die mittlere Leukozytenzahl im peripheren Blut von 8490/mm^3 um etwa ein Viertel auf 6460/mm^3 zurück ($p < 0{,}005$). Einem Anstieg auf 10210/mm^3 am Ende der 4. Woche p.i. ($p < 0{,}001$) folgt ein Rückfall auf den Ausgangswert in der 6. Woche p.i., worauf der Leukozytenwert aber erneut stark ansteigt (Zunahme bereits in der 7. Woche wieder gesichert, $p < 0{,}05$) und am Ende der Untersuchungszeit, in der 12. Woche p.i., mit 13200/mm^3 um mehr als die Hälfte über dem Wert vor der Infektion liegt. Der erste Gipfel der mittleren Leukozytenzahl wird dabei zwei Wochen früher als die maximale Parasitendichte erreicht.

II. PARASITAEMIE (Abb. 1; Tab. 2)

Eine Woche nach der intraperitonealen Inokulation von $7{,}2 \cdot 10^5$ Parasiten ist die Praepatenzzeit bei 15 der 24 beobachteten Tiere (62,5%) bereits beendet. Die mittlere Parasitendichte steigt danach kontinuierlich an bis zu einem Maximum von 1667/mm^3 am Ende der 6. Woche p.i.. Es folgt ein etwas steilerer Abfall auf einen Mittelwert von 12 Parasiten/mm^3 in der 10. Woche p.i. und am Ende der 12. Woche lassen sich bei keinem der 24 Tiere mehr Parasiten im Dicken Tropfen nachweisen.

Abb. 1
T. cruzi - Infektion des Meerschweinchens:
Leukozytenzahl Ⓛ und Parasitämie Ⓟ



Zum Mittelwert $\bar{x}$ ist die Standard-Abweichung s_d angegeben.

Tabelle 1 Mittlere Leukozytenzahl pro mm^3 Blut bei der experimentellen Trypanosoma cruzi-Infektion des Meerschweinchens (N = 24)

	$\bar{x}$	$s_{\bar{x}}$
vor der Infektion	8490	± 578
Wochen p.i.		
1	7340	± 330
2	6460	± 207
3	8720	± 148
4	10210	± 170
5	9140	± 155
6	8150	± 152
7	9770	± 168
8	11110	± 207
10	10850	± 496
12	13200	± 943

(Zum Mittelwert $\bar{x}$ ist der mittlere Fehler des Mittelwertes $s_{\bar{x}}$ angegeben.)

Tabelle 2 Mittlere Parasitendichte pro mm^3 Blut bei der experimentellen Trypanosoma cruzi-Infektion des Meerschweinchens (N = 24)

	$\bar{x}$	$s_{\bar{x}}$
Wochen p.i.		
1	25	± 6
2	523	± 74
3	922	± 77
4	1195	± 116
5	1557	± 195
6	1667	± 226
7	1115	± 156
8	472	± 95
10	12	± 20
12	0	± 0

(Zum Mittelwert $\bar{x}$ ist der mittlere Fehler des Mittelwertes $s_{\bar{x}}$ angegeben.)

III. SERUMEIWEISS-VERÄNDERUNGEN

a. Trennleistung der Disc-Elektrophorese und Interpretation der Banden

Infolge der feinmaschigen Gitterstruktur des Trenngels wird bei der Disc-Elektrophorese die Wanderungsgeschwindigkeit der Banden in stärkerem Maße als bei anderen Elektrophorese-Verfahren durch Form und Größe der Moleküle bestimmt. Dieser "Sieb-Effekt" führt zusammen mit dem diskontinuierlichen Puffer-System ("pH-Sprung" zwischen Sammel- und Trenngel) zu einer hohen Trennleistung. Zahlreiche Autoren haben versucht, mit Hilfe verschiedener Verfahren einzelne Fraktionen der Disc-Elektropherogramme menschlicher und tierischer Seren zu charakterisieren. Abbildung 2 faßt die entsprechenden Befunde von CLARKE (1964), DAVIS (1964), DESOWITZ und Mitarb. (1968) FELGENHAUER und Mitarb. (1967), ISICHEI (1966) sowie ORNSTEIN (1964) zusammen. Die Wanderungsgeschwindigkeit der einzelnen Fraktionen ist dabei in der von FELGENHAUER und Mitarb. (1967) vorgeschlagenen R_f-Skala angegeben, die ihren Nullpunkt (R_f= 100) beim Maximum des Säulenabschnitts 1 (Albumin-Region) hat. Wie problematisch die Interpretation einzelner schmaler Banden des Disc-Elektropherogramms ist - insbesondere in der Post-Transferrin-Region - zeigen PEACOCK und seine Mitarb. (1965): Bei etwa 200 gesunden Blutspendern wiesen sie für den Post-Transferrin-Bereich mindestens 12 Pherogramm-Typen nach, die in keiner Korrelation zu anderen Merkmalen, z.B. den Blutgruppen standen. Dagegen stimmten die Pherogramme in der Post-Albumin-Region gut überein. Entsprechend fanden auch DAVIS (1964) und ISICHEI (1966) bei vergleichbaren Untersuchungen des Post-Transferrin-Bereiches keine Übereinstimmung bei der präparativen Charakterisierung schmaler Banden, die bei den herkömmlichen Trennverfahren zur $Alpha_2$- bzw. Beta-Globulin-Fraktion gehören. Weitere Interpretationsschwierigkeiten ergeben sich aus Überschneidungen der Gamma-Globuline mit den $Alpha_2$- und Beta-Globuli-

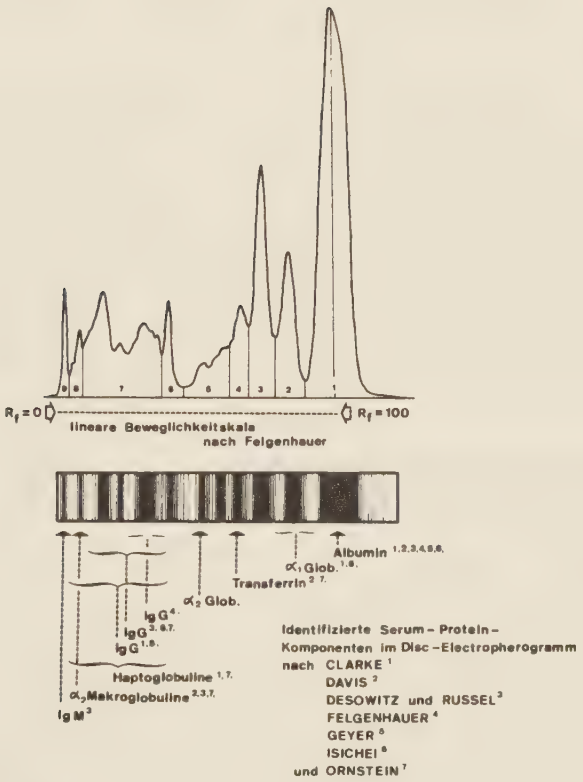


Abb. 2

Disc-Elektropherogramm vom Serum eines nicht infizierten Meerschweinchens und bisher identifizierte Serum-Protein-Komponenten.

nen, da sich bei der Disc-Elektrophorese die Gamma-Globuline als "Protein-Untergrund" vom Trennstartpunkt bis in den Alpha$_2$-Bereich erstrecken (ISICHEI, 1966; MAURER 1968).

In dieser Arbeit werden die Pherogramme entsprechend den sinnfälligen Fraktionen bzw. Fraktionsgruppen in neun fortlaufend numerierte Abschnitte unterteilt. Die Interpretation der einzelnen Fraktionen stützt sich dabei auf die in Abbildung 2 zusammengefaßten Angaben der eingangs erwähnten Autoren. Die Praealbumin-Fraktion bleibt unberücksichtigt, da ihre Wanderungsgeschwindigkeit unter gleichen Bedingungen erheblich variiert, ein Phänomen, für das es noch keine Erklärung gibt (vgl. FELGENHAUER und Mitarb.,1967).

b. Fraktionen (Abb. 2,3,4; Tab. 3)

Abschnitt 1 (Albumin-Region)

Abschnitt 1 zeigt schon zwei Wochen p.i. mit einem Mittelwert von 36,2% einen gesicherten Abfall ($p < 0,02$) gegenüber 41,3% vor der Infektion. Die rückläufige Tendenz setzt sich bis Ende der 6. Woche p.i. (29,4%) fort. Ende der 8. Woche ist jedoch mit 40,2% der Ausgangswert wieder erreicht (Anstieg gesichert: $p < 0,02$). Danach sinkt der prozentuale Anteil von Abschnitt 1 erneut ab und liegt auch am Ende der Untersuchungszeit mit 36,7% signifikant ($p < 0,02$) unter dem Ausgangswert.

Abschnitt 2 (Alpha$_1$-Glykoproteid, Alpha$_2$HS-Glykoproteid)

Diese Fraktion mit ihrem Ausgangswert von 8,6% erreicht in der 5. Woche p.i. einen Höchstwert von 11,1% ($p < 0,001$), um dann am Ende des Untersuchungszeitraumes wieder zum Ausgangswert zurückzukehren.

Abschnitt 3 (Alpha-Lipoproteide)

Abschnitt 3 sinkt von 12,7% vor der Infektion bis zum Ende der Untersuchung auf 8,5% ($p < 0,001$).

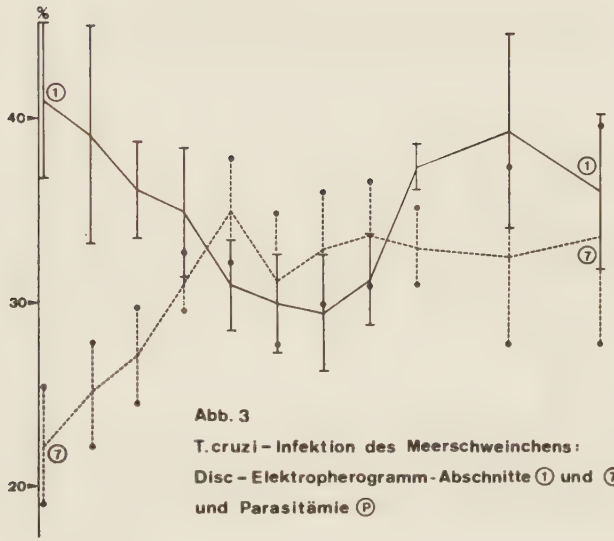
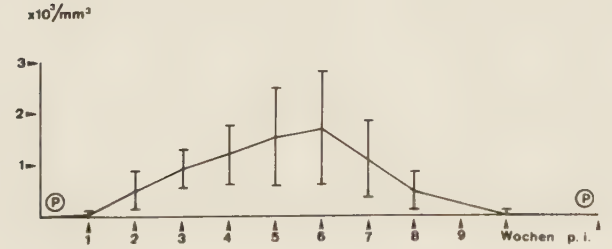
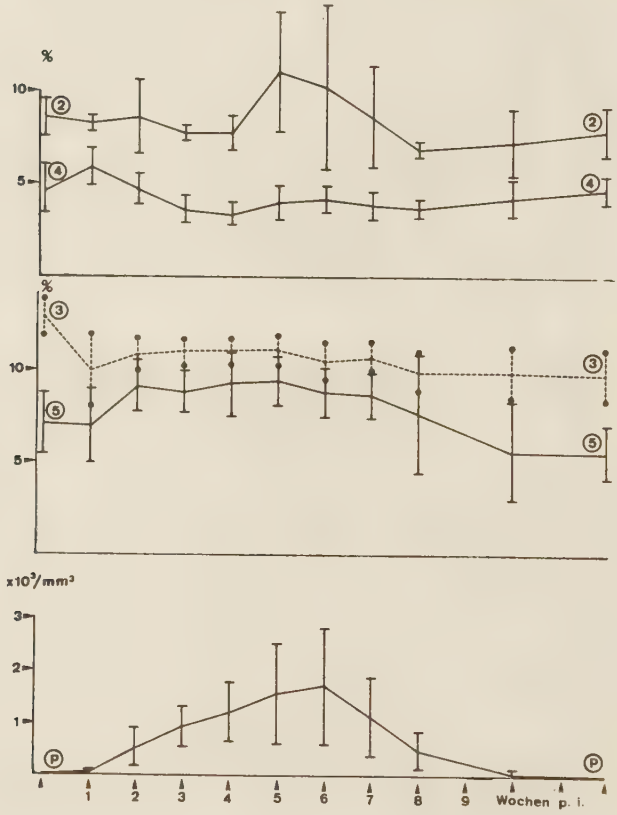


Abb. 3
T. cruzi – Infektion des Meerschweinchens:
Disc – Elektropherogramm-Abschnitte ① und ⑦
und Parasitämie Ⓟ



Zum Mittelwert $\bar{x}$ ist die Standard-Abweichung s_d angegeben.

Abb. 4 T.cruzi-Infektion des Meerschweinchens:
Disc-Elektropherogramm-Abschnitte ②,③,④ und ⑤
und Parasitämie Ⓟ



Zum Mittelwert $\bar{x}$ ist die Standard-Abweichung s_d angegeben.

Abschnitt 4 (Haemopexin, Coeruloplasmin)

Abschnitt 4 zeigt geringe Schwankungen, die sich gegensinnig zu denen von Abschnitt 3 verhalten. Sein Anteil nimmt von 4,6% vor der Infektion bis auf 6,5% am Ende der Untersuchung zu ($p < 0,001$).

Abschnitt 5 (Haptoglobin 1-1, Transferrin, $Beta_1A$-Globulin)

Abschnitt 5 weist ein anscheinend ähnliches zeitabhängiges Verhalten auf wie Abschnitt 3 (vgl. Abb. 4). In den ersten 5 Wochen der Infektion nimmt sein Anteil von 7,1% auf 9,4% zu ($p < 0,001$), am Ende der Untersuchung unterscheidet er sich jedoch nicht mehr signifikant vom Ausgangswert.

Abschnitt 6

In Abschnitt 6 findet man während des Beobachtungszeitraums nur geringfügige, aber doch signifikante ($p < 0,005$) Schwankungen der Mittelwerte zwischen maximal 3,8% (vor der Infektion) und minimal 3,0% (8 Wochen p.i.).

Abschnitt 7 (Haptoglobine 2-2, 2-1, Immunglobuline)

Der mittlere Anteil von Abschnitt 7 steigt in den ersten vier Wochen der Infektion von 22,1% steil auf den Höchstwert von 35,1% an. Diese Zunahme ist schon mit Ablauf der ersten Infektionswoche hoch gesichert ($p < 0,001$). Nach zuerst stärkeren, später geringfügigeren Schwankungen wird bis zum Ende der Untersuchungszeit ein Plateau-Wert von 30,5% gehalten, der damit um ein Drittel über dem Wert vor der Infektion liegt ($p < 0,001$).

Abschnitt 8 (Beta-Lipoproteide)

Abschnitt 8 erreicht jeweils 5, 7, und 10 Wochen p.i. Maxima zwischen 4,6% und 4,9% (jeweils $p < 0,01$) und stellt am Ende der Untersuchung mit 3,3% den gleichen Anteil am Serumeiweiß wie vor der Infektion.

Tabelle 3 a Serumeiweißverteilung (%) im Verlauf der experimentellen Trypanosoma cruzi-Infektion des Meerschweinchens. Abschnitt 1, 2 und 3

		Abschnitt 1		Abschnitt 2		Abschnitt 3	
	N	$\bar{x}$	$s\bar{x}$	$\bar{x}$	$s\bar{x}$	$\bar{x}$	$s\bar{x}$
Vor der Infektion	24	40,5	±0,9	8,6	±0,2	12,7	±0,2
Wochen p.i.							
1	24	39,1	±1,2	8,3	±0,1	10,0	±0,4
2	24	36,2	±0,5	8,6	±0,4	10,8	±0,2
3	21	35,1	±0,8	7,7	±0,1	11,0	±0,2
4	23	30,9	±0,5	7,7	±0,2	11,0	±0,1
5	24	30,0	±0,5	11,1	±0,7	11,1	±0,2
6	24	29,4	±0,7	9,8	±0,6	10,5	±0,2
7	23	31,5	±0,5	8,3	±0,3	10,7	±0,2
8	21	37,4	±0,4	6,6	±0,2	9,9	±0,3
10	22	39,4	±1,1	7,0	±0,3	9,9	±0,3
12	23	36,2	±0,9	7,6	±0,2	9,7	±0,3
14	24	33,6	±0,6	7,2	±0,2	10,0	±0,2
16	23	35,0	±0,8	7,1	±0,2	9,6	±0,1
24	22	36,7	±1,2	8,8	±0,5	8,5	±0,2

(Zum Mittelwert $\bar{x}$ ist der mittlere Fehler des Mittelwertes $s\bar{x}$ angegeben.)

Tabelle 3 b Serumeiweißverteilung (%) im Verlauf der experimentellen Trypanosoma cruzi-Infektion des Meerschweinchens. Abschnitt 4, 5 und 6

	N	Abschnitt 4 $\bar{x}$	Abschnitt 4 $s\bar{x}$	Abschnitt 5 $\bar{x}$	Abschnitt 5 $s\bar{x}$	Abschnitt 6 $\bar{x}$	Abschnitt 6 $s\bar{x}$
vor der Infektion	24	4,6	±0,3	7,1	±0,4	3,8	±0,2
Wochen p.i.							
1	24	5,9	±0,2	6,9	±0,4	3,6	±0,1
2	24	4,7	±0,2	9,1	±0,3	3,4	±0,1
3	21	3,6	±0,2	8,8	±0,2	3,3	±0,2
4	23	3,3	±0,1	9,3	±0,4	3,2	±0,1
5	24	4,0	±0,2	9,4	±0,3	3,2	±0,1
6	24	4,2	±0,1	8,8	±0,3	3,2	±0,1
7	23	3,9	±0,2	8,7	±0,3	3,4	±0,1
8	21	3,7	±0,1	7,2	±0,9	3,0	±0,1
10	22	4,3	±0,2	5,6	±0,6	3,5	±0,1
12	23	4,8	±0,2	5,6	±0,3	3,3	±0,1
14	24	3,9	±0,1	7,1	±0,2	3,3	±0,1
16	23	4,6	±0,2	7,2	±0,3	3,6	±0,1
24	22	6,5	±0,3	6,0	±0,5	3,4	±0,1

(Zum Mittelwert $\bar{x}$ ist der mittlere Fehler des Mittelwertes $s\bar{x}$ angegeben.)

Tabelle 3 c Serumeiweißverteilung (%) im Verlauf der experimentellen Trypanosoma cruzi-Infektion des Meerschweinchens. Abschnitte 7,8 und 9

		Abschnitt 7		Abschnitt 8		Abschnitt 9	
	N	$\bar{x}$	$s\bar{x}$	$\bar{x}$	$s\bar{x}$	$\bar{x}$	$s\bar{x}$
vor der Infektion	24	22,1	±0,4	3,3	±0,5	2,6	±0,1
Wochen p.i.							
1	24	25,1	±0,6	3,1	±0,1	2,9	±0,1
2	24	27,1	±0,5	2,9	±0,1	3,5	±0,1
3	21	31,1	±0,4	3,4	±0,2	5,0	±0,2
4	23	35,1	±0,6	4,4	±0,2	5,9	±0,2
5	24	31,5	±0,7	4,8	±0,2	4,7	±0,2
6	24	32,9	±0,6	3,6	±0,2	5,3	±0,3
7	23	34,0	±0,5	4,6	±0,3	4,7	±0,2
8	21	33,2	±0,6	3,9	±0,3	4,6	±0,2
10	22	32,8	±1,0	4,9	±0,2	4,4	±0,1
12	23	34,0	±1,2	4,4	±0,2	3,8	±0,1
14	24	34,0	±0,7	4,1	±0,3	3,6	±0,1
16	23	33,2	±0,7	4,2	±0,2	3,7	±0,2
24	22	30,5	±0,7	3,3	±0,2	3,2	±0,2

(Zum Mittelwert $\bar{x}$ ist der mittlere Fehler des Mittelwertes $s\bar{x}$ angegeben.)

Abschnitt 9 ($Alpha_2$-Makroglobuline)

Abschnitt 9 nimmt in den ersten vier Wochen der Infektion von 2,6% auf 5,9% zu ($p < 0,001$). Bis zum Ende der Untersuchung fällt der mittlere Anteil von Abschnitt 9 wieder auf 3,2% ab und liegt damit noch signifikant ($p < 0,005$) über dem Ausgangswert.

c. Gesamt-Serumeiweiss

10 Wochen p.i. hat das Gesamt-Serumeiweiß mit 6,4g% um etwa 50% gegenüber dem Mittelwert vor der Infektion (4,6g%) zugenommen ($p < 0,01$). 24 Wochen p.i. ist es wieder auf 5,4g% abgesunken.

D. DISKUSSION

I. PARASITAEMIE

Über den Verlauf der Parasitaemie des in dieser Arbeit verwendeten Trypanosoma cruzi-Stammes "G" liegen bisher keine Veröffentlichungen vor. Aus Untersuchungen mit anderen Stämmen ist jedoch bekannt, daß folgende Faktoren die Parasitaemie beeinflussen können (LAVERAN und MESNIL, 1912; PHILLIPS, 1960):

Art und Ausmaß des Gewebsbefalls,
Virulenz des Erregers,
Art des Wirts,
Inokulationsdosis und
Inokulationstechnik.

a. Gewebsbefall

Die einzelnen Stämme von T. cruzi zeigen eine unterschiedliche Affinität zu den Geweben des Wirts. Man unterscheidet ausgesprochen reticulotrope (z.B. Tulahuen-Stamm, PIZZI und Mitarb., 1954), viscerotrope (z.B. Y-Stamm, REGO und GARNHAM, 1956) und myotrope (z.B. El Volcan-Stamm, PIZZI und Mitarb., 1954) Erreger. Weniger differenziert in seiner Gewebsaffinität ist der WBH-Stamm, dessen Pseudocysten sich in Skelettmuskulatur, Lunge, Leber, Milz, im Intestinaltrakt und in den Nieren finden (HAUSCHKA, 1949). "Normal tissue tropism" ohne bevorzugten Befall bestimmter Gewebe weist der Huara-Stamm auf (PIZZI und Mitarb., 1954). Aus den Angaben der Autoren geht jedoch nicht hervor, in welcher Phase der Infektion die histologischen Befunde jeweils erhoben wurden. Weiterhin ist nicht ersichtlich, ob die Erregerstämme ihre spezifischen Gewebsaffinitäten auch bei einem Wechsel des warmblütigen Wirtes beibehalten. Die Pseudocysten des hier verwendeten Stammes "G" finden sich während der akuten Phase der Infektion im Muskelgewebe des Meerschweinchens, besonders im Herzmuskel, doch erlauben diese Einzelbefunde noch keine Klassifizierung im Hinblick auf die Gewebsaffinität.

b. Virulenz des Erregers

Die Stämme von Trypanosoma cruzi werden - gemessen an der Lebenserwartung der infizierten Versuchstiere - als "extremely virulent" (z.B. WBH-Stamm, HAUSCHKA, 1949; PHILLIPS, 1960), "highly virulent" (z.B. Y-Stamm, DA SILVA und NUSSENZWEIG, 1953; REGO und GARNHAM, 1956; Tulahuen-Stamm, HAUSCHKA, 1949) oder "less virulent" (Z.B. Brazil-Stamm, HAUSCHKA, 1949) klassifiziert. Allerdings ist die Virulenz nicht konstant, sondern hängt u.a. von den Passagebedingungen ab. Ein (aus Triatoma rubrovaria in Uruguay isolierter) T. cruzi - Stamm z.B. erfuhr durch fortlaufende Passagen in Mäusen eine kontinuierliche Virulenzminderung, während die Virulenz bei Kulturhaltung voll erhalten blieb (GALLIARD, 1952). PIZZI und Mitarb., (1954) konnten aber auch in Kulturmedien durch fortlaufende Passagen eine Virulenzminderung von T. cruzi erzielen. Unter standardisierten Bedingungen (C_3H-Mäuse gleichen Alters, einheitliche Inokulationsdosen) gelang es HAUSCHKA (1949) sowie PIZZI und Mitarb. (1954), die Virulenz der Erreger über lange Zeiträume konstant zu halten. PHILLIPS (1960), der gleichfalls auf die Bedeutung einheitlicher Passagebedingungen hinweist, steigerte die Virulenz des T. cruzi - Stammes Sonya durch fünf aufeinander folgende Passagen in neugeborenen C_3H-Mäusen. In den Untersuchungen von BRENER und CHIARI (1967) führten Infektionen bei standardisierter Versuchsanordnung in Albino-Inzucht-Mäusen zwar jeweils zu einem kontinuierlichen Anstieg der Parasitendichte im Blut um etwa 150-300 Parasiten/mm^3 täglich, doch waren die Krankheitsverläufe unterschiedlich. Zwei Stämme (Berenice und Y) erreichten mit knapp 2000 Parasiten/mm^3 den vergleichsweise niedrigen Parasitengipfel bereits am 5. oder 6. Tag p.i.. Beide Infektionen verliefen für die Mäuse ebenso tödlich wie die in der gleichen Arbeit beschriebene Infektion mit dem Stamm FL, dessen Parasitenzahl im Blut noch bis zum Ende anstieg. Zwei weitere ebenfalls von BRENER und CHIARI (1967) untersuchte Stämme (PNM und ABC) zeigten 12 bzw. 13 Tage p.i. maximale Parasitendichten im Blut. Ob auch diese Infektionen letal verliefen, geht aus der zitierten Arbeit nicht hervor.

Einen leichten Krankheitsverlauf beschrieben FEDERICI und Mitarb. (1964): ein columbianischer T. cruzi-Stamm führte bei der C_3H-Maus nach intraperitonealer Inokulation von 150000 Parasiten bis zum 10. Tag p.i. zu einem leichten Anstieg der Parasitendichte im Blut. In den folgenden Tagen fiel die Parasitendichte wieder auf 1/5 des Maximum, und 60 Tage p.i. waren im peripheren Blut keine Parasiten mehr nachweisbar.

Über die Virulenz des in der vorliegenden Untersuchung verwendeten T. cruzi-Stamms "G" liegen zwar keine vergleichbaren Angaben anderer Autoren vor, sie dürfte jedoch relativ gering sein, da am Ende des Versuchs - 24 Wochen p.i. - noch alle Tiere am Leben waren.

c. Art des Wirtes

Nicht bei allen Parasit-Wirt-Kombinationen hat die Inokulationsdosis einen nachweisbaren Einfluss auf den Verlauf der T. cruzi-Infektion. So ergaben Untersuchungen von PHILLIPS (1960) bei C_3H-Mäusen, die mit den Stämmen BH bzw. Y infiziert worden waren, eine deutliche Korrelation zwischen der Zahl der inokulierten Erreger einerseits und der Parasitendichte andererseits. Dagegen nahm die Infektion mit dem Sonya-Stamm unabhängig von der Inokulationsdosis bei nur geringer Erregerdichte im Blut immer einen tödlichen Ausgang.

Derartige Unterschiede im Infektionsverlauf können nicht nur als spezifisches Merkmal des jeweiligen Erregerstammes angesehen werden. Der gleiche Stamm Y, der in C_3H-Mäusen eine deutliche Abhängigkeit der Parasitaemie von der Zahl der inokulierten Parasiten zeigte (PHILLIPS, 1960), führte bei nicht näher klassifizierten Inzucht-Albinomäusen regelmäßig zu tödlichen Infektionsverläufen mit nur geringer Erregerdichte im Blut (BRENER und CHIARI, 1967).

d. Inokulationsdosis

Die Angaben in der Literatur über die Bedeutung der Ino-

kulationsdosis für den Verlauf einer experimentellen T. cruzi - Infektion sind uneinheitlich. ROMANA und TERRACINI (1945) beobachteten bei Mäusen, daß sich mit zunehmender Zahl der inokulierten Parasiten die Praepatenzperiode verkürzt und ein Wechsel von chronisch gutartigen zu akut malignen Verläufen eintritt. DISKO und KRAMPITZ (1969) beschrieben die Abhängigkeit der Praepatenzzeit von der Inokulationsdosis als logarithmische Funktion der Zahl der inokulierten Trypanosomen. Dagegen führten in den Untersuchungen von GHELELOVITCH und Mitarb. (1957) - ebenfalls bei Mäusen - zwar größere Inokulationsdosen zu höheren Parasitendichten im Blut, die Praepatenzzeit war jedoch unabhängig von der Zahl der inokulierten Parasiten.

Während BRENER und CHIARI (1967) nach intraperitonealer Inokulation von jeweils 150000 Parasiten bei verschiedenen Stämmen von T. cruzi eine lineare Zunahme der Parasitaemie um etwa 150-300/mm^3 täglich beobachteten, stieg die Erregerdichte im Blut bei den von DISKO und KRAMPITZ (1969) untersuchten NMRI-Mäusen nach intramuskulärer Inokulation von 1300000 Parasiten des WBH-Stamms annähernd exponentiell an.

e. Inokulationstechnik

Vergleichende Untersuchungen über den Einfluß verschiedener Inokulationstechniken auf den Verlauf von T. cruzi - Infektionen liegen nicht vor. Ob die widersprüchlichen Angaben über die Zunahme der Parasitendichte (BRENER und CHIARI, 1967; DISKO und KRAMPITZ, 1969) durch die verschiedenen Infektionsmethoden - intraperitoneal bzw. intramuskulär - erklärt werden, bleibt dahingestellt.

II. SERUMEIWEISS-VERÄNDERUNGEN

Bisher liegen über Serumeiweiss-Veränderungen bei der experimentellen T. cruzi - Infektion nur papierelektrophoretische Untersuchungen von SENECA und Mitarb. (1958) vor. Danach waren am 15. Tag der Infektion von dba-Mäusen mit

dem Tulahuen-Stamm die Albumine von 59,5% (vor der Infektion) auf 42,4% gesunken, dagegen die Alpha-Globuline von 15,4% auf 17,1%, die Beta-Globuline von 20,1% auf 22,1% und die Gamma-Globuline von 5,0% auf 18,4% gestiegen. Gleichzeitig ging das Gesamteiweiß im Serum von 6,0g% auf 5,1g% zurück.

Der von SENECA und Mitarb. beobachtete Abfall der Albumine und der gleichzeitige Anstieg der Globuline - insbesondere der Gamma-Globuline - entsprechen grundsätzlich den in der vorliegenden Arbeit erhobenen Befunden am Meerschweinchen. Andererseits war das Gesamteiweiß im Serum der Meerschweinchen - allerdings erst 10 Wochen p.i. - signifikant erhöht. Der Anstieg des Gesamteiweiß ist aber zumindest nicht ausschließlich als infektionsbedingt zu werten; BARROS (1964) fand nämlich bei einem Vergleich von gesunden jungen Meerschweinchen (1 Monat) mit gesunden erwachsenen Tieren (4 Monate) eine Zunahme des Gesamteiweiß im Serum von 4,53g% auf 5,36g%.

Die prozentualen Verschiebungen in der Zusammensetzung des Serumeiweißes nach Infektion mit T. cruzi - die in den eigenen Versuchen kontinuierlich bei Tieren im Alter von 4 bis zu 28 Wochen registriert wurden - sind dagegen nicht altersbedingt, wie die vor den Infektionsversuchen durchgeführte Analyse des Serumeiweißes von 39 nichtinfizierten Meerschweinchen (Alter: 6-7 Wochen, 8-9 Wochen, 20-22 Wochen) mit Hilfe der Disc-Elektrophorese ergab.

Zwar lassen sich den einzelnen Infektionskrankheiten nicht spezifische qualitative oder quantitative Serumeiweiß-Veränderungen zuordnen (PETERMANN, 1961), doch ist bekannt, daß das Serum-Gesamteiweiß mit der Schwere, die relativen Anteile der einzelnen Protein-Komponenten mit Art und Dauer der Erkrankung variieren (BELFRAGE, 1963).

a. Albumine

Die nach der Praealbumin-Fraktion (Thyroxin- Carrier; RAPP, 1964) auch disc-elektrophoretisch beweglichsten Serumeiweiß-Moleküle sind die Albumine (Abschnitt 1). Jede Er-

krankung, die mit einer Entzündung einhergeht, führt zu einer Verminderung ihres relativen Anteils, jedoch läßt sich bisher nicht entscheiden, inwieweit das Absinken direkte Folge von Veränderungen in der Synthese-, bzw. Abbau- und Ausscheidungsrate ist und ob die Abnahme der Albumine zur Aufrechterhaltung einer isoosmolaren Homöostase beim Anstieg anderer Serumeiweiß-Bestandteile erforderlich wird (BELFRAGE, 1963).

b. Immunglobuline

Humorale Antikörper wandern bei der trägerfreien, der Papier- und der Stärkegel-Elektrophorese, hauptsächlich in der Gamma-Globulin-Fraktion (IgG-Immunglobuline), daneben auch in der $Beta_2$-Fraktion (IgA-, IgM-Immunglobuline) (vgl. RAPP, 1964; SCHMID, 1964). In neuerer Zeit sind immunelektrophoretisch auch in der $Alpha_1$- und $Beta_1$-Globulin-Fraktion Antikörperaktivitäten nachgewiesen worden (vgl. STREJAN, 1965). In unseren Disc-Elektropherogrammen sind die IgG-Immunglobuline in Abschnitt 7 enthalten, der in der vorliegenden Untersuchung seinen maximalen Anteil am Serum-Gesamteiweiß zu einer Zeit erreichte, als die Parasitendichte im Blut bereits wieder absank. Daß dieser Abschnitt gegen die Parasiten gerichtete Antikörper enthält, kann zwar mit den verwendeten Methoden nicht bewiesen werden, doch dürfte die Antigen-Variabilität von T. cruzi die Bildung von Antikörpern besonders stimulieren. Beispielsweise fanden NUSSENZWEIG und Mitarb. (1963) bei 7 T. cruzi-Stämmen mit Hilfe von Praecipitations- und Agglutinationsreaktionen jeweils 10 verschiedene Antigene. Ebenfalls durch Praecipitation und Agglutination wiesen SENECA und Mitarb. (1966) in Extrakten von in vitro gehaltenen Trypanosomen (Tulahuen-Stamm) 9 Antigene nach.

Neben der durch die Antigenwirkung der Erreger selbst ausgelösten Antikörperbildung ist die Produktion von Autoantikörpern möglich. Die Untersuchungen von JAFFÉ und Mitarb. (1961) sowie von KOZMA (1962) weisen darauf hin, daß die

T. cruzi-Myocarditis beim Meerschweinchen auf autoimmunologische Mechanismen zurückzuführen ist.

Nach SEAH und MARSDEN (1969) geht der Erwerb einer schützenden Immunität gegen T. cruzi mit einer Zunahme Komplement-bindender Antikörper im Serum einher. Das Vorhandensein solcher spezifischer Antikörper im Serum beweist aber nicht die Ausbildung einer schützenden Immunität. Auch der Befund, daß unter der Einwirkung spezifischer Kaninchen-Immunseren in Kulturen von T. cruzi vielkernige Riesenzellen entstehen, die weder in serumfreien Medien noch bei infizierten Tieren gefunden werden (ADLER, 1958), erlaubt keine Rückschlüsse auf die Bedeutung der im Serum enthaltenen Antikörper für den Infektionsverlauf, da T. cruzi sich natürlicherweise intrazellulär in Pseudozysten vermehrt und unbekannt ist, in welcher Konzentration humorale Antikörper dorthin gelangen.

III. AKTIVE IMMUNISIERUNG

Eine aktive schützende Immunität bei Mäusen konnten HAUSCHKA und Mitarb. (1950), KAGAN und NORMAN (1960), GALLIARD und Mitarb. (1962) sowie SEAH und MARSDEN (1969) mit avirulenten T. cruzi-Stämmen, PIZZI und Mitarb. (1954) sowie MARR und PIKE (1967) mit virulenzgeschwächten Kulturformen erzeugen. Unter Chemotherapie-Schutz gelang dies HAUSCHKA und Mitarb. (1950) ebenfalls mit hochvirulenten Stämmen von T. cruzi. Auch abgetötete Trypanosomen (HAUSCHKA und Mitarb., 1950) oder Extrakt aus ultraschallysierten Kulturformen des Tulahuen-Stammes (SENECA und Mitarb., 1966) führten in Mäusen zu einer schützenden Immunität. Der Nachweis des erworbenen Immunschutzes wurde von den genannten Autoren dadurch erbracht, daß die behandelten Versuchstiere eine Zweitinfektion mit virulenten T. cruzi-Stämmen überlebten. In diesem Zusammenhang ist auch von Interesse, daß wiederholte Infektionen mit T. cruzi bei Albino-Mäusen zu keinen zusätzlichen histopathologischen Veränderungen führen (ANDRADE und Mitarb., 1968). Die zitierten Versuche zur aktiven Immunisierung bewiesen

außerdem die Existenz einer Kreuzimmunität zwischen verschiedenen Stämmen (HAUSCHKA und Mitarb., 1950; KAGAN und NORMAN, 1960; GALLIARD und Mitarb., 1962; MARR und PIKE, 1967),

Wiederholte Infektionen von Meerschweinchen mit dem in der vorliegenden Untersuchung verwendeten T. cruzi-Stamm "G" führten zu keiner apparenten Infektion, auch dann nicht, wenn der Erstinfektion eine Splenektomie vorausgegangen war oder folgte (KRETSCHMAR, pers. Mitt.).

IV. PASSIVE IMMUNISIERUNG

Im Gegensatz zu diesen Erfolgen mit einer aktiven Immunisierung gelang die passive Immunisierung gegen T. cruzi bisher weder bei Ratten mit Ratten-Immunseren (CULBERTSON und KOLODNY, 1938) noch bei Mäusen mit Seren Chagas-kranker Patienten (HUZLER und Mitarb., 1964). Auch Meerschweinchen-Immunseren entfalteten beim Meerschweinchen keine Schutzwirkung (KRETSCHMAR, pers. Mitt.). Eine Beziehung zwischen den hier beobachteten Veränderungen in der Zusammensetzung des Serumeiweißes und der im Verlaufe der T. cruzi-Infektion erworbenen schützenden Immunität besteht also offensichtlich nicht.

E. ZUSAMMENFASSUNG

Bei 24 mit Trypanosoma cruzi (Stamm "G") infizierten Meerschweinchen wurde der Ablauf der Parasitaemie und Leukozytose verfolgt sowie das Serumeiweiß während der akuten Phase der Infektion und nach spontaner Ausheilung mit der Disc-Elektrophorese aufgetrennt.

Die Parasitaemie erreichte 6 Wochen p.i. ein Maximum, 12 Wochen p.i. ließen sich bei keinem der Versuchstiere mehr Trypanosomen im Blut nachweisen.

Die Disc-Elektrophorese zeigte in allen 9 Abschnitten signifikante Veränderungen. Der mittlere Anteil von Abschnitt 1 (Albumin-Region) durchlief zum Zeitpunkt der höchsten Parasitendichte ein Minimum und lag auch am Ende der Untersuchung noch signifikant unter dem Ausgangswert. In den ersten 4 Wochen der Infektion stieg der Anteil von Abschnitt 7, der die IgG-Immunglobuline enthält, auf das Eineinhalbfache des Ausgangswertes und blieb bis zum Ende des Untersuchungszeitraumes signifikant erhöht.

Der Einfluß der Parasit-Wirt-Kombination, der Infektionsdosis und der Infektionstechnik auf den Verlauf der experimentellen Trypanosoma cruzi - Infektion sowie die Beziehung der beobachteten Serumeiweißveränderungen zur Immunität werden diskutiert.

F. LITERATURVERZEICHNIS

ADLER,S.: The action of specific serum on a strain of Trypanosoma cruzi. Ann. trop. Med. Parasit. 52, 282-301 (1958)

ANDRADE,S.G., R.M.FIGUEIRA, & Z.A.ANDRADE: Influência de infecções repetidas no quadro histopatologica da doença de Chagas experimental. Gaz. Méd. Bahia 68, 115-123 (1968). Zit. n. Trop. Dis. Bull. 66, 799 (1969)

BARROS,C: Serum proteins on laboratory animals. Z. Versuchstierk. 5, 130-149 (1964)

BELFRAGE,S: Plasma protein pattern in the course of acute infectious disease. Acta med. scand. 173, (Supp), 1-169 (1963)

BRENER,Z. & E.CHIARI: Susceptibilidade de diferentes amostras de Trypanosoma cruzi a varios agentes quimioterápicos. Rev. Inst. Med. Trop. S.Paulo 9, 197-207 (1967)

CLARKE,I.T.: Simplified "disc" (polyacrylamide gel) electrophoresis. Ann. N.Y. Acad. Sci. 121, 428-436 (1964)

CULBERTSON,J.T. & M.H.KOLODNY: Acquired immunity in rats against Trypanosoma cruzi. J. Parasit. 24, 83-90 (1938)

DA SILVA,L.H.P. & V.NUSSENZWEIG: Sôbre uma cepa de Trypanosoma cruzi altamente virulenta para o camundongo branco. Fol. clin. biol. (S.Paulo) 20, 191 (1953) Zit. n. PHILLIPS (1960)

DAVIS,B.J.: Disc-Electrophoresis. II. Material and application to human serum proteins. Ann. N.Y. Acad. Sci. 121, 404-407 (1964)

DESOWITZ,R.S., K.PAVANAND &D.VACHARAPHORN: Comparative studies on the pathology and host physiology of malarias. IV. - Serum protein alteration in Plasmodium coatneyi malaria: a comparision of cellulose and polyacrylamide disc electrophoretic

patterns. Ann. trop. Med. Parasit. 62, 210-217 (1968)

DISKO,R. & H.E.KRAMPITZ: Die retardierte Verlaufsform der experimentellen Infektion mit Trypanosoma cruzi (Stamm WHB) in laktierenden Mäusen. Z. Parasitenk. 32, 11-42 (1969)

DOMINGUEZ,A. & J.A.SUAREZ: Untersuchungen über das intracardiale Nervensystem bei Myocarditis chagasica. Z. Tropenmed. u. Parasit. 14, 81-85 (1963)

FEDERICI,E.E., W.H.ABELMANN & F.A.NEVA: Chronic and progressive myocarditis with Trypanosoma cruzi. Amer. J. trop. Med. Hyg. 13, 272-280 (1964)

FELGENHAUER,K., S.BACH & A.STAMMLER: Elektrophorese von Serum und Liquor cerebrospinalis in Polyacrylamid-Gel. Klin. Wschr. 45, 371 (1967)

GALLIARD,H., J.LAPIERRE & M.COSTE: Protection croisée entre souches hétérologues de Trypanosoma cruzi chez la souris. Son inhibition par la cortisone. C.R. Soc. Biol. (Paris) 156, 1267-1270 (1962)

GHELELOVITCH,S. & R.CHASSIGNET: Évolution de la parasitemie chez les souris infectées de Trypanosoma cruzi. Rôle de l'inoculate. Bull. Soc. Path. exot. 50, 135-143 (1957)

HAUSCHKA,T.S.: Persistence of strain - specific behaviour in two strains of Trypanosoma cruzi after prolonged transfer through inbred mice. J. Parasit. 35, 593-599 (1949)

HAUSCHKA,T.S., M.B.GOODWIN, J.PALMQUIST & E.BROWN: Immunological relationship between seven strains of Trypanosoma cruzi and its application in the diagnosis of Chagas' disease. Amer. J. trop. Med. 30, 1-16 (1950)

HUZLER,R.V., V.AMATONETO, O.MELLONE & H.B.W.T.DE SOUZA: Investigaçoes sôbre o emprêgo de gama-globulina, obtida de doadores de sanguine com reação de fixação do complemento positiva para doença de Chagas, sôbre a infeçcão experimental de comundon-

gos pelo Trypanosoma cruzi. Rev. Hosp. Clin. Fac. Med. S.Paulo 19, 197-199 (1964). Zit. n. Trop. Dis. Bull. 62, 87 (1965)

ISICHEI,U.P.: Vergleichende Untersuchungen über die Leistungsfähigkeit moderner elektrophoretischer Analysenmethoden für die klinische Diagnostik. Med. Dissertation, Univ. München, 1966

JAFFÉ,R., A.DOMINGUEZ & B.GAVALLIER: Bemerkungen zur Pathogenese der Chagaskrankheit. Z. Tropenmed. Parasit. 12, 137-146 (1961)

KAGAN,I.G. & L.NORMAN: Immunologic studies on Trypanosoma cruzi. J. infect. Dis. 107, 165-174 (1960)

KOZMA,C.: Über den Nachweis spezifischer Herz-Autoantikörper bei der Chagas-Myocarditis. Z. Tropenmed. Parasit. 13, 175-180 (1962)

KRETSCHMAR,W.: (pers. Mitteilung)

LAVERAN,A. & F.MESNIL: Trypanosomes and trypanosomiases. Baillère, Tindall & Co., London (1907). Zit. n. PHILLIPS,N.R. (1960)

MARR,J.S. & E.H.PIKE: The protection of mice by "Corpus Christi" strain of Trypanosoma cruzi when challenged with "Brasil" strain. J. Parasit. 53, 657-659 (1967)

MAURER,R.: Disk-Elektrophorese. Walter de Gruyter & Co (1968)

MAYER,M. & H.DA ROCHA LIMA: Zum Verhalten von Schizotrypanum cruzi in Warmblütern und Arthropoden. Arch. Schiffs- und Tropenhyg. 18, (Beiheft) 257-292 (1914). Zit. n. PIEKARSKI,G. & C.MESKE: Experimentelle Infektionen mit pathogenen Protozoen. Handbuch der experimentellen Pharmakologie, Ergänzungswerk, Band XVI Teil 9, Infektionen I. Springer, Berlin, Göttingen, Heidelberg (1964)

NUSSENZWEIG,V., L.M.DEANE & J.KLOETZEL: Differences in antigenic constitution of strains of Trypanosoma cruzi. Exp. Parasit. 14, 221-232 (1963)

ORNSTEIN,L.: Disc electrophoresis I. Background and theory.

Ann. N.Y. Acad. Sci. 121, 321-349 (1964)

PEACOCK,A.C., S.L.BUNTING and K.G.QUEEN: Serum protein electrophoresis in acrylamide gel: Patterns from normal human subjects. Science 142, 1451-1453 (1965)

PETERMANN,M.L.: Plasma proteins in bacterial infections. Ann. N.Y. Acad. Sci. 94, 144-148 (1961)

PHILLIPS,N.R.: Experimental studies on the quantitative transmission of Trypanosoma cruzi. Considerations regarding the standardization of materials. Ann. trop. Med. Parasit. 54, 60-70 (1960)

PIZZI,T., M.RUBIO & F.KNIERIM: Immunology of Chagas' disease, Riv. Parasit. 15, 577-592 (1954)

RAPP,W.: Immuno-Elektrophorese. Fortschr. Med. 82, 932-940 (1964)

REGO,S. & P.C.C.GARNHAM: The "Y" strain of Trypanosoma cruzi: leishmanial development in the spleen of mice (Laboratory demonstration), Trans. roy. Soc. trop. Med. Hyg. 50, 299 (1956)

REICHENOW,E.: Beiträge zur Kenntnis der Chagas-Krankheit. Arch. Schiffs- und Tropenhyg. 38, 459-477 (1934) Zit. n. PIEKARSKI,G. & C.MESKE: Experimentelle Infektionen mit pathogenen Protozoen. Handbuch der experimentellen Pharmakologie, Ergänzungswerk, Band XVI Teil 9, Infektionen I. Springer, Berlin, Göttingen, Heidelberg.(1964)

ROMAÑA,C. & E.TERRACINI: Comportamiento de las infecciones de lauchas por S. cruzi, segun la concentracion de parasitos inoculados (infecciones cronicas iniciales). An. Inst. Med. region. (Tucumán) 1, 141 (1945)

SCHMID,F.: Antikörper. Fortschr. Med. 82, 644-645 (1964)

SEAH,S. & P.D.MARSDEN: The protection of mice against a virulent strain of Trypanosoma cruzi by previous inoculation with an avirulent strain. Ann. trop. Med. Parasit. 63, 211-214 (1969)

SENECA,H., I.B.SANG & A.K.TROC: The electrophoretic pattern of the serum proteins in experimental haemo-

flagellate infections. Trans. roy. Soc. trop. Med. Hyg. 52, 230-234 (1958)

SENECA,H., P.PEER & B.HAMPAR: Active immunization of mice with chagastoxin. Nature (London) 209, 309-310 (1966)

STREJAN,G.: Antibody heterogeneity to Trypanosoma cruzi. Experientia (Basel) 21, 399 (1965)

Lebenslauf

Am 15. Oktober 1942 wurde ich, Wolfgang Herms, als zweiter Sohn des Arztes Dr. med. Hellmut Herms und seiner Ehefrau, der Ärztin Dr. med. Ruth Herms, geb. Hochdörfer, in Sachsenhausen / Waldeck geboren. Nach der Volksschulzeit besuchte ich die Christian-Rauch-Schule (Realgymnasium) in Arolsen / Waldeck, an der ich im Februar 1963 die Reifeprüfung ablegte.

Im Sommer-Semester 1963 begann ich mit dem Studium der Medizin in Tübingen. Dort bestand ich im Juli 1964 das Vorphysikum und im März 1966 das Physikum. Nach je einem Semester in Wien und Düsseldorf setzte ich an der Universität Tübingen mein Studium fort und schloß es im September 1969 mit dem Staatsexamen ab.